

MESA II. INFECCIÓN TUBERCULOSA LATENTE EN NIÑOS QUE VISITAN SUS PAÍSES DE ORIGEN O EL DE SUS PADRES

Moderadores: **Antoni Noguera.** *Unitat de TB infantil. Hospital Sant Joan de Deu. Esplugues de Llobregat.*

Tomás M. Pérez. *Unitat de Tuberculosi. Servei de Pediatria. Atenció primària i Hospital Universitari Mútua de Terrassa. Terrassa.*

Metodología para evaluar pruebas de diagnóstico de una enfermedad sin *gold standard* a propósito de la TB pediátrica

Rosa Abellana

Unitat de Bioestadística. Departament de Fonaments Clínics. Universitat de Barcelona.

Correspondencia:

Rosa Abellana

E-mail: rabellana@ub.edu

La prueba o test diagnóstico es un instrumento importante en la práctica y la investigación clínica porque es una herramienta para tomar una decisión médica sobre el estado de salud de un paciente. El conocimiento del funcionamiento o la calidad de los test de diagnóstico es de vital importancia. Esta calidad se evalúa mediante los parámetros de validez y de seguridad. La validez del test de diagnóstico es el grado en que un test detecta la enfermedad y se mide mediante los parámetros de sensibilidad y especificidad. Y la seguridad es la certeza que un test prediga la presencia o ausencia de la enfermedad en un paciente.

En el paradigma clásico la evaluación de la validez y seguridad de un test se realiza comparando los resultados del test de diagnóstico con un test de referencia considerado *gold standard* (test con sensibilidad y especificidad del 100%). Pero hay enfermedades en las que no hay un test de referencia perfecto o la verificación mediante el test de referencia es impracticable debido a los costes, accesibilidad o riesgo de la prueba. En estas situaciones cuando el test de referencia no refleja la verdad de manera adecuada, es decir, es un test imperfecto, la validez y la seguridad del test están sujetos a errores.

En la última década, en el campo de la medicina y veterinaria se ha aplicado el análisis de clase latente (ACL) para estimar la sensibilidad y especificidad de un test o varios test en ausencia de *gold standard*. En estos análisis el estado real de salud del paciente es un dato latente (Formann and Kolmann, 1996). Y particularmente, ACL modelan la condición no observable como

una variable latente categórica. La problemática de los ACL es que tenemos más parámetros a estimar que los grados de libertad de los datos necesarios para poder estimar estos parámetros. Desde el punto de vista de máxima verosimilitud se debe imponer restricciones a los parámetros para poder ser estimados, como, por ejemplo, asumir que la sensibilidad o la especificidad de uno de los dos test es conocida, o que las especificidades son conocidas. Las estimaciones del resto de parámetros se calculan condicionadas a estos valores y no se podrá ni estimar ni conocer la incertidumbre de los parámetros que hayan sido fijados. Dado que usualmente todos los parámetros son desconocidos las restricciones impuestas serán a menudo arbitrarias. Una posible solución para evitar la imposición de restricciones de los parámetros es utilizar aproximaciones bayesianas y concretamente asignar una distribución de probabilidad a los parámetros a estimar, conocidas como distribuciones *a priori*. La información de los datos, a través de la función de verosimilitud y la combinación de la distribución *a priori* se obtiene la distribución posterior de los parámetros, que nos va permitir obtener la estimación puntual y por intervalo de la prevalencia y la sensibilidad y especificidad de los test (Joseph *et al.*, 1995).

Caso ejemplo

Se realizó un estudio transversal para calcular la prevalencia de la infección tuberculosa latente y determinar la exactitud y la

validez del test *Tuberculin Skin Test* (TST) y *Quantiferon-TB Gold In-Tube Assay* (QFT) (Perez-Porcuna *et al.*, 2016). El estudio incluye una muestra de 29 niños menores de 6 años sin ningún contacto reciente conocido con TB y otro grupo de 92 niños con contacto a un caso índice en los 12 últimos meses. Fueron excluidos del análisis 16 niños porque presentaron un resultado indeterminado con QFT. El reclutamiento de los datos se realizó en la Policlínica Cardoso Fontes y en la Fundação de Medicina Tropical Dr. Heitor Vieira Dorado, Manaus (Brasil) entre marzo del 2009 a febrero del 2010. Todos los casos índices adultos tenían esputo y cultivo positivo. Los individuos que recibieron tratamiento o profilaxis de TB fueron excluidos.

Para estimar la prevalencia y la sensibilidad y especificidad de ambos test se asumió para la prevalencia una distribución priori no informativa y basándonos en la literatura de LTBI, se consideró que la sensibilidad y la especificidad de los dos test se encuentran dentro del rango 50%–100%.

Treinta y cuatro niños (32,7%) mostraron resultado positivo con el QFT y treinta y tres (31,4%) con el TST, pero sólo 19 niños (23,9%) dieron positivos para ambos test. Los dos test mostraron una baja concordancia de 0,364 ($p < 0,001$). La prevalencia de la infección en el grupo de niños sin contacto con un caso índice fue de 0,04 (95% ICr [0,00; 0,20], siendo de 0,50 en niños con contacto con un caso índice (95% ICr [0,28; 0,81]). La sensibilidad del QFT fue de 0,58 (95% ICr [0,41; 0,78]) y 0,75 (95% ICr [0,49; 0,94]) para el TST. La especificidad del QFT fue de 0,79 (95% ICr [0,67; 0,91]) y 0,92 (95% ICr [0,78; 0,98]) para el TST. En el grupo de niños con el contacto con un caso índice, la probabilidad de que un niño

diagnosticado como positivo realmente este infectado fue de 0,74 (95% ICr [0,47; 0,95]) para QFT y 0,91 (95% CrI [0,61; 0,99]) para TST. Por otra parte, la probabilidad de que un niño diagnosticado como negativo realmente no este infectado fue de 0,65 (95% CrI [0,27; 0,88]) para QFT y 0,79 (95% CrI [0,31; 0,96]) para TST.

Conclusión

La estimación de la prevalencia de una enfermedad y los parámetros (sensibilidad, especificidad y valores predictivos) de los test utilizados para estudiar la presencia de una enfermedad en ausencia de *gold standard* es un importante avance para la evaluación de test de diagnóstico. Esto es de especial relevancia en el actual contexto epidemiológico y diagnóstico del estudio de la infección por *Mycobacterium Tuberculosis* en la que es imposible determinar si un individuo está realmente infectado o si esta persona presenta respuesta inmune a una infección previa.

Bibliografía recomendada

- Formann AK, Kohlmann T. Latent class analysis in medical research. *Statistical Methods in Medical Research*. 1996;5(2):179-211.
- Joseph L, Gyorkos TW, Coupal L. Bayesian estimation of disease prevalence and the parameters of diagnostic tests in the absence of a gold standard. *American Journal of Epidemiology*. 1995;141(3):263-72.
- Perez-Porcuna TM, Doyle Pereira-da-Silva H, Ascaso C, Malheiro A, Bühner S, Martinez-Espinosa F, Abellana R. Prevalence and Diagnosis of Latent Tuberculosis Infection in Young Children in the Absence of a Gold Standard. *PLoS One*. 2016;11(10) p. e0164181.

Future approaches to the diagnosis of TB in children

Patricia Comella

Institut d'Investigació en Ciències de la Salut Germans Trias i Pujol (IGTP). Badalona.

Correspondencia:

Patricia Comella

E-mail: patricia.comella@gmail.com

It is estimated that there are more children with tuberculosis (TB) than those diagnosed. This is mostly because currently available methods are based on sputum samples. However, young children have a low number of bacilli in their sputum or are unable to expectorate. Therefore, despite advances in rapid molecular

TB diagnostics, methods based on respiratory specimens have a low diagnostic sensitivity in the paediatric population. As for the immunodiagnostic assays, both tuberculin-skin-test (TST) and interferon-gamma release assays (IGRAs)—that measure cell-mediated immune responses following *Mycobacterium tubercu-*

losis infection—provide information about likely *M. tuberculosis* infection but are unable to distinguish between latent infection and active TB disease. As a result, there is currently no *gold standard* for the diagnosis of childhood TB. Therefore, most children are diagnosed through radiological and clinical scoring systems limited by the clinical presentation of the disease hampering their diagnosis and delaying therapeutic strategies for TB control. Moreover, its diversity of clinical manifestations often overlaps with other common childhood conditions as pneumonia, HIV-associated lung disease, and malnutrition.

In order to close the gap in detecting cases of childhood TB, the search for new biomarkers should be focused on developing a rapid, child-friendly and non-sputum-based test able for diagnosing the early stages of paediatric TB. This would improve the detection of the source of TB infection in the community and prevent progression to severe forms of the disease, such as disseminated TB and TB meningitis.

Recently promising biomarkers for paediatric TB diagnosis in non-sputum-based specimens have been reported. According to the WHO-endorsed minimal targets product profiles (TPPs) for new TB diagnostic test in children, the minimal targets of diagnostic performance recommended should meet sensitivity and specificity of $\geq 66\%$ and $\geq 98\%$, respectively¹.

Blood-based tests for TB diagnosis. Two case-control studies by Armand *et al.* and Zhou *et al.* reported a combination of cytokines in plasma (IP-10, IL-2 and IL-13) and a combination of circulating miRNAs in PBMCs (miR-1, miR-155, miR 31, miR 146a, miR 10a, miR 125b, miR 150, and miR 29) respectively, with sufficient diagnostic performance to develop a new TB diagnostic test in children. However, neither could discriminate between active TB and LTBI cases. In this approach, IL-2 and TNF- α cytokines showed in the potential for discriminating between active and latent TB with diagnostic but did not reach the minimum target product profiles for new TB diagnostics². Recently, we showed that the combination of the cytokines IP-10, IFN- γ , ferritin, and 25-hydroxyvitamin-D in the QuantiFERON Gold in Tube (QFT) Nil, Ag-TB, and PHA tubes, and biochemical tubes, with Luminex and chemiluminescence immunoassays, has potential to discriminate between active and latent TB and to identify the onset of primary TB in children³. This combination achieved the best diagnostic performance with a correct classification of active TB (93.2%) and LTBI (90.0%) cases. Also, this combination of biomarkers classified correctly 76.2% of the mediastinal TB cases showing the potential of these biomarkers for early diagnosis of paediatric TB.

Stool-based tests for TB diagnosis. Nucleic acid amplification testing of stool samples could be a promising non-invasive and easy to collect alternative to the sputum-based methods

for TB diagnosis in children. In recent years, studies have been conducted to evaluate the diagnostic accuracy of stool testing with the Xpert MTB/RIF assay and in-house test in the paediatric population⁴. However, these studies reported high heterogeneity of stool test sensitivities from 12% to 100% with Xpert stool test, and 19%–67% with another in-house test. Although molecular stool tests have demonstrated potential as diagnostic screening tests, the variation between studies in test methodology and procedures presents a challenge in optimizing test sensitivity. Furthermore, data of PCR stool tests in children under five years old for diagnostic accuracy evaluation remains insufficient.

Urine-based tests for TB diagnosis. Urine is a sterile, non-invasive, and easily collectable sample that requires little sample preparation, which makes it a promising sample for TB diagnosis. Alere Determine TB LAM Ag immunoassay (AlereLAM, Abbott, Chicago, US) has been introduced as a new alternative for TB diagnosis from urine samples with higher sensitivity in HIV patients. However, the diagnostic accuracy showed insufficient sensitivity and specificity (48.3% and 60.8%, respectively) for diagnosing TB in children attributed to the protocol used for urine collection. Recently, a new generation of urine LAM assays, Fujifilm SILVAMP TB LAM (FujiLAM) has been developed⁵, demonstrating an improved sensitivity for diagnosing TB in HIV patients compared to AlereLAM (in patients with pulmonary TB, extrapulmonary TB, or both only FujiLAM detected 60%, 67%, and 91% respectively, compared to, 19%, 41%, and 61% respectively for AlereLAM). Children may also have a higher amount of LAM antigen in urine (as people with HIV) as they have an immature immune system leading to a bad contention of the TB infection. Therefore, FujiLAM assay should be evaluated in children as a promising assay for TB diagnosis.

Metabolomics has emerged from the 'omics' as a tool for obtaining a fingerprint of all the metabolites presents in a cellular system, allowing the discrimination between samples from different biological status. In this approach, urine-based metabolomics can be applied to the study of metabolites affected by host-pathogen interactions and the identification of diagnostic markers for TB disease. A recent study of metabolic profiling in children's urine by NMR has been conducted to correlate the broad spectrum of disease manifestations and TB severity to clinical case definitions for the classification of TB in children. Further exploration of the utility of this technology in children should be assessed to improve research into the diagnosis of TB in children (manuscript pending to submit).

We aimed to address the challenges of diagnosing TB in children and highlight the latest advances focused on the development of rapid, accurate and child-friendly tools for TB diagnosis in the paediatric population.

References

1. World Health Organization. Roadmap towards ending TB in children and adolescents. WHO. 2018. Available from: <http://www.who.int/tb/publications/2018/tb-childhoodroadmap/en/>
2. Togun TO, Maclean E, Kampmann B, Pai M. Biomarkers for diagnosis of childhood tuberculosis: A systematic review. 2018;1–19.
3. Comella-del-Barrio P, Abellana R, Villar-Hernández R, Jean Coute MD, Sallés Mingels B, Canales Aliaga L, et al. A Model Based on the Combination of IFN- γ , IP-10, Ferritin and 25-Hydroxyvitamin D for Discriminating Latent From Active Tuberculosis in Children. *Front Microbiol.* 2019;:1–15. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2019.01855/full>
4. Mesman AW, Rodriguez C, Ager E, Coit J, Trevisi L, Franke MF. Diagnostic accuracy of molecular detection of Mycobacterium tuberculosis in pediatric stool samples: A systematic review and meta-analysis. *Tuberculosis* [Internet]. 2019;119:101878. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.tube.2019.101878>
5. Broger T, Sossen B, du Toit E, Kerkhoff AD, Schutz C, Ivanova Reipold E, et al. Novel lipoarabinomannan point-of-care tuberculosis test for people with HIV: a diagnostic accuracy study. *Lancet Infect Dis.* 2019;19(8):852–61.

Infecció tuberculosa en nens “Visiting Friends and Relatives” que viatgen a països amb una elevada incidència de TB

Antoni Soriano-Arandes¹, Àngels Orcau², Maria Espiau¹, Antoni Noguera-Julian³, Joan Caylà⁴, Tomàs Pérez-Porcuna⁵ en representació del grup de recerca de Tuberculosi Pediàtrica de Catalunya*

¹Unitat de Patologia Infecciosa i Immunodeficiències Pediàtriques, Hospital Universitari Vall d'Hebron, Barcelona. ²Servei d'Epidemiologia, Agència de Salut Pública de Barcelona, Barcelona. ³Unitat de Malalties Infeccioses, Servei de Pediatria, Hospital Sant Joan de Déu, Esplugues de Llobregat (Barcelona). ⁴Fundació de la Unitat de Investigació en Tuberculosi de Barcelona (fuiTB), Barcelona. ⁵Servei de Pediatria, Hospital Mútua de Terrassa, Terrassa (Barcelona).

*Raisa Morales-Martínez, José Santos, Jordi Gómez i Prat (Centre de Salut Internacional i Malalties Transmissibles Drassanes-Vall d'Hebron, PROSICS, Hospital Universitari Vall d'Hebron); M^a Teresa Tórtola (Hospital Universitari Vall d'Hebron); Emma Padilla (Microbiologia CATLAB); Neus Rius, Maria Teresa Pascual (Hospital Universitari Sant Joan de Reus); Marta Urgellés, Mónica García, Adriana Giuliano, Beatriz Lorenzo, Noemi Magro, Gemma Jimenez Llòdser (Servei Pediatria, Atenció Primària, Mútua de Terrassa); Andrea Papaleo, (Equip d'Atenció Primària Sant Pere de Reus); Lorena Bravitz (CAP Cambrils, Tarragona) Dolors Riera (Línia Pediàtrica Drassanes, SAP Litoral Esquerra, Barcelona); Mónica Marco, Mercè Pons (CAP Maragall, SAP Dreta, Barcelona); Alessandra Queiroga, Victoria Mailen (Unitat de Suport a la Recerca Terres de l'Ebre, Institut Universitari d'Investigació en Atenció Primària Jordi Gol, Tortosa); Eva Morros (Línia Pediàtrica CAP Magoria, Barcelona), Andrea Martín-Nalda (Unitat de Patologia Infecciosa i Immunodeficiències Pediàtriques, Hospital Universitari Vall d'Hebron, Barcelona); Àngels Naranjo, Eulàlia Sigró (ABS Montblanc, Tarragona); M^a Àngels Rifà, Eva Serra, Maria Teresa Riera, Elisabet Solà, Ampar García Gallego, Roser Arnau, Maria Eril, Montserrat Sánchez, Eulàlia Farrés, Ariana Rufach, Montserrat Comas, Núria Vilardell, Assumpta Arumí, Judith Planella, Isabel Llagostera, Anna Ramos, Sílvia Burgaya, Esperança Macià, Natàlia Sàbat (SAP Osona, Barcelona); Anna Vilamala (Servei de Microbiologia, Hospital General de Vic, Barcelona)

Correspondència:

Antoni Soriano-Arandes

E-mail: tsorianoarandes@gmail.com

Introducció

Al juliol de 2015 es va presentar la nova guia de consens “Recomanacions per a la prevenció i el control de la tuberculosi pediàtrica a Catalunya” en la qual s'indicava la realització d'una prova de tuberculina (PT) a tots els nens i nenes, sobretot als menors de 5 anys d'edat, que tornessin de països amb una incidència de tuberculosi (TB) de com a mínim 3 vegades (>50 casos per cada 100.000 habitants) la incidència de TB a Catalunya¹.

Encara que la majoria dels casos de TB pediàtrica registrats a Catalunya a l'any 2017 corresponen a nens autòctons (87,7%),

els fills de famílies d'immigrants representen >50% del total de casos declarats². Molts d'ells són nens nascuts al nostre país o a l'estranger que visiten les seves famílies d'origen, que viuen en països de major incidència de TB que la nostra, i es defineixen com a “Visiting Friends and Relatives” (VFRs)³. Els objectius d'aquest estudi van ser estimar la taxa d'infecció TB latent (ILTB) recent, adquirida durant el viatge, en nens i nenes que són viatgers VFRs. També volíem determinar quins factors podien estar associats als resultats positius de PT i tests d'alliberació d'interferon gamma (IGRAs) en aquesta població i veure si hi havia factors de discordança entre els resultats de PT i IGRAs.

Mètodes

Estudi prospectiu observacional multicèntric a Catalunya d'una cohort de nens menors de 15 anys que viatgen com a VFRs a països d'elevada incidència TB durant el període 2016-2019. Es va definir com a VFR a aquell nen o nena menor de 15 anys d'edat, nascut al territori estatal o fora d'ell, que té un dels seus progenitors originari d'un país d'elevada incidència per TB (>50 casos de TB/100.000 habitants) i que realitza una estada de més de 21 dies al país o regió de la seva família estrangera. Es va descartar la ILTB amb una PT pre-viatge. Es va considerar ITBL incident quan el participant tenia una prova immunològica, IGRA (QuantiFERON-TB Gold PLUS® [QFT]) o PT, positiva després del viatge.

Resultats

Es van identificar 773 possibles participants per a l'estudi en 23 centres de diferent nivell assistencial, dels quals 746 (96,5%) van ser inclosos (Figura 1).

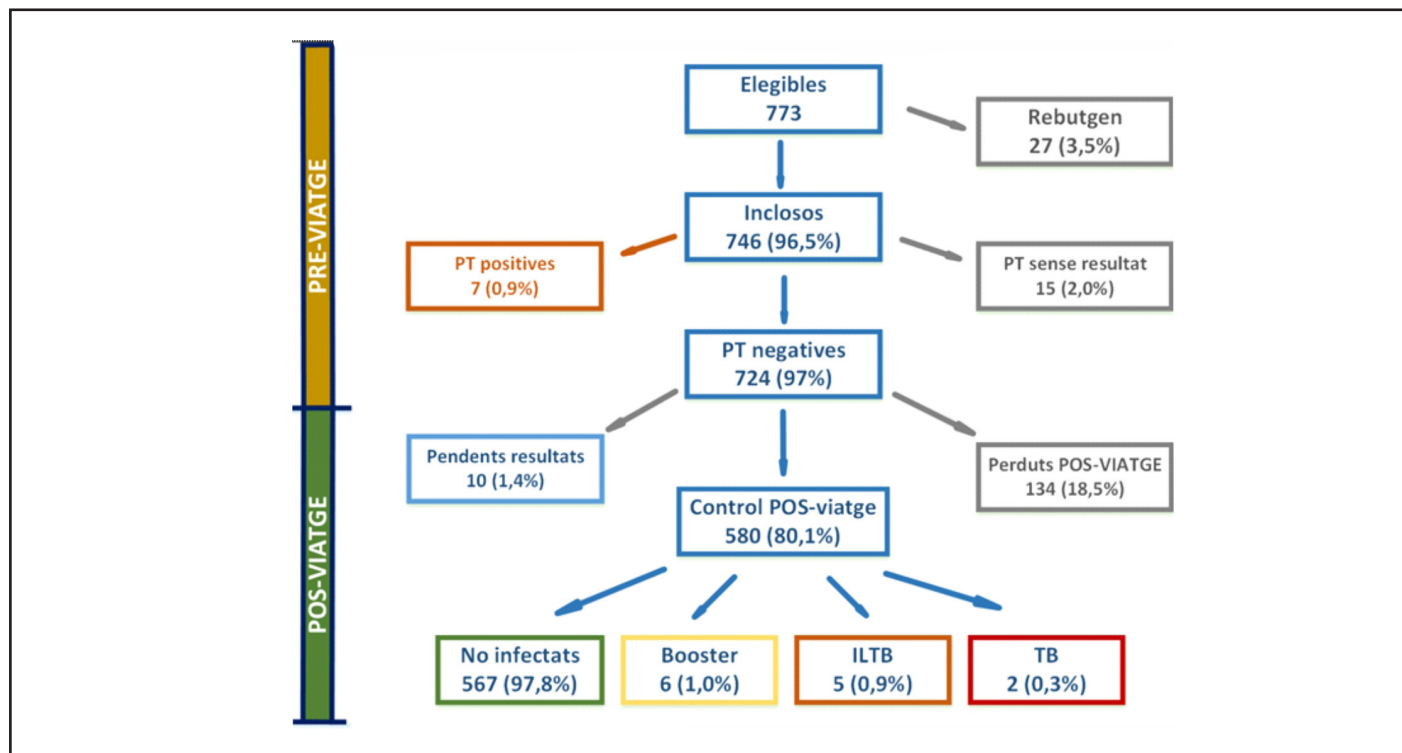
L'edat mediana [RIC] dels participants abans del viatge era de 6,5 [3,3-9,6] anys, i el 50,1% eren de sexe masculí. Encara que la majoria dels nens eren autòctons (89,7%), prop de la meitat

(45,2%) eren fills de mares originàries del Marroc, i un 10,4% fills de mare de Pakistan. Els principals països de destí dels nens van ser el Marroc (46,1%), Pakistan (10,9%), Bolívia (6,2%) i l'Índia (5,3%). Només el 6,4% estaven vacunats amb BCG.

Finalment, 590 nens van ser visitats després del viatge, que són el 81,5% dels que tenien enregistrada la PT abans del viatge. La durada mitjana [RIC] del viatge va ser de 31 [17-54] dies. La mitjana [RIC] de convivents al domicili durant l'estada al país visitat va ser de 7 [6-9] convivents. La PT es va realitzar a una mitjana [IQR] de 99 [74-110] dies després de tornar del viatge.

Després del viatge es recolliren dades completes de 580 nens, dels quals en 567 la PT no es va modificar amb resultat negatiu de 0mm. Es detectaren 13 conversions de la PT (> 5mm) i un cas sense conversió però amb QFT positiu (valor de 0,87 UI/mL). Sis de les conversions de la PT es van considerar com a fenomen "booster" donat que estaven vacunats de BCG i tenien un QFT negatiu. Finalment, es va arribar al diagnòstic d'ILTB en 5 casos (4 amb PT+QFT- i un amb PT-QFT+) i al diagnòstic de TB activa en 2 casos (PT+QFT-), representant una prevalença d'ILTB/TB del 1,2% (IC95% 0,2-2,1). La taxa d'incidència per ILTB/TB, si considerem PT>5mm, va ser de 7,9 casos (IC95%: 3,2-16,2) per cada 100 persones-any, o de 5,6 casos (IC95% 1,8-13,0) per cada 100 persones-any si considerem PT>10mm.

Figura 1. Diagrama de flux dels participants a l'estudi.



PT: prova de tuberculina; ILTB: infecció latent tuberculosa; TB: tuberculosi.

Conclusions

Els nens VFR que visiten països d'alta prevalença de TB tenen un risc superior a l'esperat de patir ILTB o TB, essent la taxa d'incidència propera als 8 casos per cada 100 nens que fan un any d'estada a un país d'elevada incidència.

Aquest estudi aporta resultats molt importants per incloure als nens i nenes VFR que viuen a Catalunya com a població diana pel cribratge d'ILTB a la tornada del viatge.

Bibliografia

1. Recomanacions per a la prevenció i el control tuberculosi pediàtrica a Catalunya.pdf. http://canalsalut.gencat.cat/web/.content/home_canal_salut/professionals/temes_de_salut/tuberculosi/documents/arxiu/tuberculosi_pediàtrica.pdf
2. http://canalsalut.gencat.cat/web/.content/_A-Z/T/tuberculosi/documents_prof/arxiu/informe_anual_tuberculosi_2017.pdf
3. Leder K, Tong S, Weld L, *et al.* Illness in travelers visiting friends and relatives: a review of the GeoSentinel Surveillance Network. *Clin Infect Dis.* 2006; 43(9):1185-93.